

ИОН-ПАРНАЯ ВЭЖХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА И ПУРИНА

Моисеев Д.В.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Производные пиримидиновых и пуриновых оснований находят широкое применение в медицинской практике. Эти соединения кодируют наследственную информацию в ДНК и РНК, обладают противовирусной и противоопухолевой активностью. Контроль качества лекарственных средств, содержащих производные пуриновых и пиримидиновых оснований, проводится, в основном, методом ВЭЖХ. В обращенно-фазовом (ОФ) варианте ВЭЖХ удерживание определяется сродством молекул хроматографируемых соединений с поверхностью сорбента. Качественно новые свойства хроматографические системы могут приобретать при введении в подвижную фазу (ПФ) динамического модификатора. Этим термином обозначается соединение, поступающее в колонку в составе ПФ и находящееся в динамическом равновесии с другими компонентами системы, радикальным образом изменяющее механизм сорбции и вызывающее качественные изменения селективности системы. Суть метода ион-парной ВЭЖХ заключается в динамическом модифицировании поверхности ОФ сорбента (например, октадецилсиликагеля) группами, обладающими ионообменными свойствами. Для этих целей используются гидрофобные органические соединения с ионогенными группами. Для разделения оснований используются алкилсульфаты натрия, для разделения кислот -- соли тетраалкиламмония. Величина и направление модифицирующего эффекта связаны с гидрофобностью и знаком заряда ион-парного модификатора. Если сорбат и модификатор имеют одинаковые заряды, введение последнего уменьшает удержание. При разноименных зарядах удерживание увеличивается. Введение ион-парных агентов обычно немного уменьшает коэффициенты емкости даже нейтральных сорбатов. Целью настоящего исследования являлось изучение общих закономерностей сорбции пуриновых и пиримидиновых оснований при ион-парном варианте обращенно-фазового хроматографирования с динамическим модифицированием нагреваемыми солями алкилсульфокислот (C_6 , C_7 , C_8 , и C_{12}). Объектами исследования служили вещества производные пурина и пиримидина: кофеин, теобромин, теofilлин, трентал, ксантинола никотинат, аденин, аденозин, АТФ, ацикловир, гуанин, гуанозин, аллопуринол, рибоксин, цитидин, цито-

зин, ЦМФ, цЦМФ, циклоцитидин. Из перечисленных веществ готовились 0,05% водные растворы и непосредственно перед инжeksiрованием разбавлялись в 10 раз ПФ (0,05 М фосфатный буфер, 0,005 М алкилсульфат натрия pH=2,5 и ацетонитрил 90:10). Значение pH ПФ подбиралось нами исходя из того, что при pH=2,5 большинство соединений существуют в ионизированном состоянии в форме катионов.

Исследования выполнялись на микроколоночном жидкостном хроматографе «Миличром-4» (Россия), снабженным спектрофотометрическим детектором (УФ-область). Регистрация осуществлялась при длине волны 260 нм. Для исследований использовалась колонка из нержавеющей стали (80×2 мм), заполненная сорбентом Nucleosil 100 C-18, 5 мкм. Скорость подачи ПФ 0,1 мл/мин, объем инжeksiруемых проб 5 мкл. Коэффициент емкости рассчитывали по формуле: $k' = (V_r - V_0)/V_0$, где V_0 – удерживаемый объем несorбируемого компонента (120 мкл – определяли по объему несorбируемого компонента NaNO₂) V_r – удерживаемый объем сорбируемого компонента.

Таблица 1

Коэффициенты удерживания производных пиримидина и пурина в ПФ с различными ион-парными реагентами

	Без ИПР	C ₆	C ₇	C ₈	C ₁₂
Цитозин	0,48	0,62	0,83	1,24	9,38
Цитидин	0,50	0,63	0,84	1,24	5,79
Циклоцитидин	0,53	0,69	0,89	1,26	6,30
ЦМФ	0,40	0,39	0,39	0,38	0,46
цЦМФ	0,44	0,41	0,41	0,43	0,65
Аденин	0,63	0,82	1,12	1,74	11,48
Аденозин	0,68	0,85	1,07	1,50	5,45
АТФ	0,37	0,32	0,27	0,24	0,17
Аллопуринол	0,79	0,83	0,82	0,80	0,60
Ацикловир	0,75	0,80	0,87	0,98	2,27
Гуанин	0,61	0,71	0,89	1,37	3,98
Гуанозин	0,73	0,73	0,79	0,89	1,66
Кофеин	5,47	5,14	4,83	4,39	2,77
Ксантинола никотинат	1,95	2,65	3,79	5,22	20,19
Рибоксин	0,70	0,66	0,66	0,63	0,51
Теобромин	1,83	1,79	1,66	1,61	0,98
Теofilлин	1,84	1,80	1,66	1,62	0,99
Грентал	26,01	24,69	22,56	18,17	8,30

Анализ полученных экспериментальных данных по удерживанию производных пиримидина и пурина показал подчинение уравнению: $\lg k' = d + c \cdot \lg n$ (1), где k' – коэффициент емкости сорбента, n – число атомов углерода в динамическом модификаторе (коэффициент

корреляции уравнения 1 более 0,95). Гидрофобные производные пуриновых оснований – метилксантины (кофеин, теобромин, теофиллин, трентал), а также аллопуринол, рибоксин при значении $pH=2,5$ сорбируются по типу нейтральных соединений. АТФ, ЦМФ, цЦМФ и ксантинола никотинат существуют в виде цвиттер-ионов, причем у АТФ преобладает механизм сорбции по типу слабой кислоты, а ЦМФ, цЦМФ и ксантинола никотинат сорбируются по типу основания. Все остальные соединения сорбируются по типу оснований.

Проведенные исследования позволили изучить основные закономерности сорбции в ион-парной ОФ ВЭЖХ соединений производных пиримидина и пурина, с использованием в качестве динамических модификаторов алкилсульфатов.